✓ پژوهش و سازندگی، شماره ۵۵، تابستان ۱۳۸۱

مطالعه ارتباط بین ترکیب بیوشیمیایی تخمک و درصد لقاح در تاسماهی ایرانی قره برون (*Acipenser persicus* Borodin 1987)

● **رجب محمد نظری**، بخش تکثیر مصنوعی ماهیان خاویاری مجتمع تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی ساری
● **مهدی یوسفیان**، بخش تکثیر و پرورش ماهیان مرکز تحقیقات شیلاتی مازندران
● **محمود رضائیان**، کارشناس مسئول بخش شیمی اداره کنترل غذا و دارو - تهران
● **سلیمان غلامی‌پور**، بخش بیوتکنولوژی مرکز تحقیقات شیلانی مازندران

تاریخ دریافت: دی ماه ۱۳۷۹ تاریخ پذیرش: آذر ماه ۱۳۸۰

چکیده
برای مطالعه ارتباط بین ترکیب بیوشیمیایی تخمک اوولهٔ شده و درصد لقاح در تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus* Borodin ۱۹۸۷)، تخمک ۲۴ عدد از ماهیان مولد که از لحاظ مراحل تکامل جنسی شرایط یکسانی را داشته و مورد تکثیر مصنوعی قرار گرفته بودند، مورد بررسی قرار گرفت (به صورت اتفاقی از میان کل ماهیان تکثیر شده). هنگام اوولاسیون حدود ۵۰ گرم از تخمک آنها نمونه‌برداری و درصد لقاح بقیه تخمها ثبت گردید و ترکیب بیوشیمیایی تخمک شامل درصد چربی، اسیدهای چرب، نسبت فسفولیپیدها به کل لیپیدها و سطح فسفولیپیدها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد ترکیب تخمک در ماهیان دارای درصد لقاح بالا (بالاتر از ۵۰ درصد) با ماهیان دارای لقاح پایین در بعضی موارد اختلاف معنی‌داری وجود داد و مقدار متوسط اسید چرب اولئیک در ماهیان دسته اول ۴۱/۴۸ درصد و در ماهیان دسته دوم ۴۴/۹ درصد بوده است ($p<0/05$) و نسبت فسفولیپیدها به کل لیپیدها در ماهیان دسته اول ۸/۸ درصد و در دسته دوم ۱۷/۶ درصد بوده است ($p<0/05$). مجموع سطوح فسفاتیدیل کولین و لیزوفسفاتیدیل اتانول‌آمین در ماهیان دسته اول ۵۳/۲ درصد و در ماهیان دسته دوم ۵۵/۵ درصد بوده است ($p<0/05$). ولی از لحاظ مقادیر سایر اسیدهای چرب، متوسط درصد چربی و سطوح فسفولیپیدهای دیگر اختلاف معنی داری نشان نداده است ($p<0/05$).

کلمات کلیدی: تاسماهی ایرانی، ترکیب بیوشیمیایی تخمک، تکثیر مصنوعی، درصد لقاح.

✓ **Pajouhesh & Sazandegi, No 55 PP: 84-91**

Study on the relationship between biochemical composition of egg and fertilization rate in Persian sturgeon *(Acipenser persicus)*

By: Nazari R.M. Rajaii Sturgeon Fish Farm, Sari - Mazandaran. Iran Yosefian M. Fishery Research Center of Mazandaran. Sari - Iran Rezaeian M. Dept. of Chemistry. Central Office of Food and Medicine Control. Tehran. Iran. Gholamypour S. Fishery Research Center of Mazandaran, Sari, Iran.

In order to determine the relationship between biochemical composition of ovulated egg and fertilization rate (F.R.) in Persian sturgeon *(Acipenser persicus* Borodin 1987) breeders of Persian sturgeon with same stage of sexual maturity were selected and propagated artificially. During of ovulation their eggs were sampled (24 specimens) and fertilization rate of eggs were recorded while biochemical composition of eggs such as: content of lipid (L) and phospholipid (PL), ratio of PL/L, fatty acids level and area of PLs were determined . Breeders, according to F.R. divided in two groups: first group with higher than 50% and second group with lower than 50%. Results showed that egg composition of females that had higher fertilization rate were different in some cases from those that had lower fertilization rate. Level of oleic fatty acid in the first group was 41.48% and in the second group was 44.9% ($p<0.05$). Ratio of PL/L in first group was 8/8% and in second group was 17/6% ($p<0.05$). Total area of phosphotidyl choline and Lysophosphatidyl ethanolamine in first group was 53.2% and in second group was 55.5% ($p<0.05$). But in this study no significant differences were found in another fattyacids and total lipid content and area of another PLs ($p>0.05$).

Key words: *Acipenser persicus*. Biochemical composition of oocyte, Artificial propagation, Fertilization rate.

جدول شماره ۱- متوسط درصد وزنی تعدادی از اسید های چرب موجود در چربی تخمک اووله شده در گروه اول مولدین تاسماهی ایرانی (ماهیانی که تخم آنها دارای لقاح بالاتر از ۵۰٪ بود).

شـــــرح		شماره ماهی						میانگین	SEM
		۱	۲	۳	۴	۵	۶		
اسید لوریک	Lauric Acid C_{12}	۱/۵۵	۰/۷۸	۰/۶۷	۱/۱۳	۰/۸۹	۰/۷۷	۰/۹۶	۰/۱۳
اسید میریستیک	Myristic Acid C_{14}	۰/۵۵	۰/۳۸	۰/۳۲	۰/۳۴	۰/۴۴	۰/۴۷	۰/۴۱	۰/۰۳
اسید پالمیتیک	Palmitic Acid C_{16}	---	۷/۶۱	۴	۴/۵۷	۴/۲	۳/۵۴	۴/۷	۰/۷۲
اسید پالمیتولئیک(۹)۱	Palmitoleic Acid C_{16}:1(9)	۳۰/۰۸	۱۹/۲۸	۱۷/۶۵	۱۹/۴۵	۲۰/۸۶	۲۰/۰۱	۲۱/۲۲	۱/۸
اسید پالمیتولئیک (۷) ۱	Palmitoleic Acid C_{16}:1(7)	۴/۲۵	۳/۸۱	۳/۲۱	۳/۷۲	۴/۲۸	۴/۵۹	۳/۹	۰/۲
اسید اولئیک	Oleic Acid C_{18}:1	۳۶/۲۶	۴۱/۰۳	۳۸/۲۳	۴۳/۸۷	۴۳/۴۰	۴۶/۱۲	۴۱/۴۸	۱/۵
اسید لینولئیک	Linoleic Acid C_{18}:2(n-6)	۲ /۱	۲/۲۱	۱/۶۱	۲/۱۳	۲/۴۵	۲/۱۱	۲/۱	۰/۱۱
اسید آلفا – لینولنیک	α-Linolenic Acid C_{18}:2(n-3)	۰/۵۵	۰/۴۱	۰/۲۹	۰/۳۸	۰/۴۷	۰/۵۲	۰/۴۳	۰/۰۳
اسید آراشیدونیک	Arachidonic Acid C_{20}:4(n-6)	۱/۶۵	۱/۳۸	۰/۷۳	۰/۸۸	۱/۳۹	۱/۱۹	۱/۲	۰/۱۴
اکوزپنتانوئیک اسید	E.P.A C_{20}:5(n-3)	۲/۰۳	۱/۹۴	۱/۳۷	۱/۴۷	۱/۹۱	۲/۲۹	۱/۸	۰/۱۴
دکوزهگزانوئیک اسید	D.H.A C_{22}:6(n-3)	۱۴/۱۳	۱۱/۵۸	۱۶/۵۹	۱۳/۵۹	۱۱/۶۳	۱۱/۲۲	۱۳/۱	۰/۸۴
	E.P.A + D.H.A	۱۶/۱۶	۱۳/۵۲	۱۷/۹۶	۱۵/۰۶	۱۳/۵۴	۱۳/۵۱	۱۴/۹	۰/۷۴
اسیدهای چرب پلی اشباع نشده (n-۳)		۱۶/۷۱	۱۳/۹۳	۱۸/۲۵	۱۵/۴۴	۱۴/۰۱	۱۴/۰۳	۱۵/۳	۰/۷۲
اسیدهای چرب پلی اشباع نشده (n-۶)		۳/۷۵	۳/۵۹	۲/۳۴	۳/۰۱	۳/۸۴	۳/۳	۳/۳	۰/۲۲

جدول شماره- ۲- متوسط درصد وزنی تعدادی از اسید های چرب موجود در چربی تخمک اووله شده در گروه دوم مولدین تاسماهی ایرانی (ماهیانی که تخم آنها دارای لقاح کمتر از ۵۰٪ بود).

شـــــرح		شماره ماهی							میانگین	SEM
		۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲			
اسید لوریک	Lauric Acid C_{12}	۰/۸۷	۰/۸۴	۱/۰۶	۱/۰۹	۰/۵۹	۱/۰۶		۰/۹۱	۰/۰۷
اسید میریستیک	Myristic Acid C_{14}	۰/۵۲	۰/۴۳	۰/۳۶	۰/۳۴	۰/۴۵	۰/۳۷		۰/۳۹	۰/۰۳
اسید پالمیتیک	Palmitic Acid C_{16}	۳/۵۸	۲/۲۷	۷/۱	۷/۹۵	—	۳/۲		۴/۸	۱/۱۳
اسید پالمیتولئیک(۹)۱	Palmitoleic Acid C_{16}:1(9)	۱۹/۳۳	۲۰/۹۳	۲۰/۰۴	۱۸/۶۳	۲۶/۴۷	۲۱/۲		۲۱/۱	۱/۱۴
اسید پالمیتولئیک (۷) ۱	Palmitoleic Acid C_{16}:1(7)	۵/۲۸	۴/۰۶	۲/۲۹	۳/۵۳	۴/۳۲	۲/۵۷		۳/۶	۰/۴۵
اسید اولئیک	Oleic Acid C_{18}:1	۴۲/۲۳	۴۶/۱۱	۴۴/۹۹	۴۲/۵	۴۵/۵۲	۴۸/۰۸		۴۴/۹	۰/۹۱
اسید لینولئیک	Linoleic Acid C_{18}:2(n-6)	۳/۰۱	۱/۹۷	۲/۲۴	۲/۰۳	۲/۱۱	۲/۶۵		۲/۳	۰/۱۶
اسید آلفا – لینولنیک	α-Linolenic Acid C_{18}:2(n-3)	۰/۶۴	۰/۵۳	۰/۶۲	۰/۳۲	۰/۴۱	۰/۵۹		۰/۵۱	۰/۰۵
اسید آراشیدونیک	Arachidonic Acid C_{20}:4(n-6)	۱/۳۲	۱/۴۲	—	۰/۸۵	۱/۰۷	—		۱/۱۶	۰/۱۲
اکوزپنتانوئیک اسید	E.P.A C_{20}:5(n-3)	۲/۱۲	۲/۱۷	۲/۱۹	۱/۳۵	۲/۱۶	۱/۴۹		۱/۹	۰/۱۵
دکوزهگزانوئیک اسید	D.H.A C_{22}:6(n-3)	۱۳/۱۷	۱۲/۷۱	۷/۱۷	۱۴/۵۳	۹/۳۲	۷/۷		۱۰/۷	۱/۲
	E.P.A + D.H.A	۱۵/۲۹	۱۴/۸۸	۹/۳۶	۱۵/۸۸	۱۱/۴۸	۹/۱۹		۱۳/۳۴	۱/۶
اسیدهای چرب پلی اشباع نشده (n-۳)		۱۵/۹۳	۱۵/۴۱	۹/۹۸	۱۶/۲	۱۱/۸۹	۹/۷۸		۱۳/۱	۱/۲
اسیدهای چرب پلی اشباع نشده (n-۶)		۴/۳۳	۳/۳۹	۲/۲۴	۲/۸۸	۳/۱۸	۲/۶۵		۳/۱	۰/۲۹

مقدمه

تاسماهی ایرانی (قره برون) یک گونه ماهی مهم اقتصادی در ایران است که جهت حفظ و افزایش ذخایر آن در دریای خزر، به طریقه مصنوعی مورد تکثیر و پرورش قرار گرفته و بچه ماهیان آن در روخانه‌های منتهی به دریا، رهاسازی می‌شود، تاسماهی ایرانی همانند دیگر گونه‌های خانواده ماهیان خاویاری یکی از قدیمی‌ترین نماینده ماهیان موجود می‌باشد که تاکنون نسل آن باقی مانده است ولی در سالهای اخیر به واسطه افزایش فشار ناشی از فعالیتهای انسانی بر روی اکوسیستم‌های آبی، احتمال حفظ نسل آن با تکیه بر تخم‌ریزی طبیعی بسیار ضعیف شده است و این تهدیدها منجر به وابستگی بیشتر این ماهیان به تکثیر و پرورش مصنوعی گردیده است (۷).

مقدار لیپیدها در تخم ماهیان خاویاری بیشتر از بسیاری از گونه‌های دیگر است که دلیل آن وجود مقدار زیاد تریاسیل گلیسرول است و همچنین فراوانی مقدار اسیدهای چرب اشباع شده و مونو اشباع نشده از خصیصه‌های تخم ماهیان خاویاری است و اغلب لیپیدها در طی دوران تکامل لاروی و بیش از ۶۰ درصد آن قبل از شروع تغذیه خارجی کاتابولیزه می‌شوند (۷).

در سالهای اخیر با وجود اینکه تکنولوژی یکسانی در تکثیر مصنوعی بکار برده می‌شود، مشاهده شده است

جدول شماره- ۳- میزان اسیدهای چرب قطبی بر حسب گرم در ۱۰۰ گرم چربی(لیپیدهای قطبی) استخراجی از تخمک اوواله شده تاسماهی ایرانی درگروه ماهیان با در صد لقاح بالاتر از پنجاه درصد)

شرح ماهی	درصد لقاح	$C_{۱۲}$	$C_{۱۴}$	$C_{۱۶}$	$C_{۱۶}n-9$	$C_{۱۶}n-7$	$C_{۱۸}$	$C_{۲۰}$	$C_{۲۰}^{۵}$	$C_{۲۲}^{۶}n-3$	متوسط چربی ٪
۱	۷۳/۷	۰/۸۳	۰/۳۸	۱۷/۸۳	۶/۸۷	۱/۸۷	۳۹/۹۵	۳/۷۴	۶/۱۵	۰/۴۵	۱۷/۲
۲	۸۰	۱/۵۵	۱/۳۶	----	----	۳/۲۸	۴۰/۲	۰/۵۱	۶/۶۲	---	۱۲
۳	۸۰/۹	۱/۹۱	۰/۶	۲۱/۵۴	۱۰/۳۳	۳/۳	۳۷/۶۹	۳/۱۲	۴/۵۱	۷/۶۴	۱۶/۸
۴	۸۰/۱	۰/۹۹	۰/۳۸	۱۷/۵	۹/۶۷	۳/۸۵	۳۴/۵	۱/۷۵	۱/۴۷	۵/۲۷	۱۶
۵	۸۸/۵	۱/۶۶	۰/۷۳	۱۹/۸۵	۸/۸۶	۲/۸۶	۴۳/۶۳	۳/۳۲	۰/۶۲	۴/۰۶	۱۳/۲
۶	۶۴/۶	۱/۲۶	۰/۴۴	۲۰/۹	۱۰/۹	۴/۵۵	----	۲/۸۶	۱/۵۷	۶/۹۴	۱۶
۷	۹۳/۲	۰/۴۸	۰/۴۳	۱۲/۱۱	۵/۷۶	۳/۹۲	۲۷/۵	۰/۲۹	۷/۰۷	۱/۵۵	---
۸	۸۹/۴	۱/۲	۰/۵۲	۱۱/۹۸	۷/۷۸	۴ /۱	۲۶/۲	۰/۳۶	۷/۵۷	۱/۸۴	---
۹	۹۱	۰/۶۴	۰/۶۷	۱۱/۴	۷/۴۳	۵/۰۷	۳۳/۳	۶/۴	۳/۱۸	۶/۶۳	---
۱۰	۶۰	۱/۳۲	۰/۶۸	۱۴/۷	۸/۳۹	۱/۲۸	۳۹/۱	۰/۷۱	۲/۵۱	۵/۲۴	---
میانگین	۸۰/۱	۱/۱۸	۰/۶۱	۱۶/۴	۸/۴	۳/۴	۳۵/۷	۲/۳	۴/۱۲	۴/۳	۱۵/۲
SEM	۳/۵	۰/۱۴	۰/۰۹	۱/۳	۰/۵۵	۰/۳۶	۱/۹	۰/۶۲	۰/۸۱	۰/۸۴	۰/۸۵

جدول شماره- ۴- میزان اسیدهای چرب قطبی بر حسب گرم در ۱۰۰ گرم چربی(لیپیدهای قطبی) استخراجی از تخمک اوواله شده تاسماهی ایرانی در گروه ماهیان با در صد لقاح کمتر از پنجاه درصد)

شرح ماهی	درصد لقاح	$C_{۱۲}$	$C_{۱۴}$	$C_{۱۶}$	$C_{۱۶}n-9$	$C_{۱۶}n-7$	$C_{۱۸}$	$C_{۲۰}$	$C_{۲۰}^{۵}$	$C_{۲۲}^{۶}n-3$	متوسط چربی ٪
۱۱	۴۶/۲	۴/۴۲	۲/۰۸	۱۰/۸۸	۵/۷	۴/۲۵	----	۳/۸	۲/۲۳	۲/۶۶	۱۶/۸
۱۲	۴۱/۴	۴/۲۴	۱/۰۱	۲۳/۲۱	۱۵/۱۷	۱/۴۷	۳۱/۶۵	۴/۱۳	۲/۴۹	۵/۷	۱۶
۱۳	۰	۱/۶۶	۰/۲۶	۱۶/۳۷	۷/۹	۳/۱۲	۳۹/۸۶	۲/۵۳	۳/۸۱	۷/۰۵	۱۷/۲
۱۴	۴۲	۱/۱	۰/۸۱	۱۵/۶۲	۷/۶۹	۵/۰۵	۳۹/۶	۲/۰۲	۱/۰۸	۸/۸۸	۱۲/۴
۱۵	۵/۵	۰/۹۵	۰/۳۶	۱۶/۸	۸/۳	۴/۴۶	۴۱/۲۹	۲/۱۷	۱/۴۷	۶/۶۵	۱۵/۶
۱۶	۴۳/۹	۰/۷۲	۰/۴۵	۱۹/۸۴	۹/۶	۴/۲۶	۳۹/۸۶	۳/۰۶	۱/۶۸	۵/۴۹	۱۵/۶
۱۷	۵	۱/۵۶	۰/۷۲	۱۱/۹	۶/۷۹	۳/۹	۲۸/۱	۰/۷۶	۵/۸۳	۶/۴۳	---
۱۸	۱۰/۳	۱/۵۴	۰/۵۷	۱۳/۴۷	۹/۴۹	۴/۴۹	۲۴/۹	۰/۶۴	۵/۷۷	۴/۵۵	---
۱۹	---	۰/۷۴	۰/۵۲	۱۲/۷۶	۱/۶۵	۳/۸۹	۳۹/۴	----	۰/۳۶	۱/۰۴	---
میانگین	۲۴/۲	۱/۸	۰/۷۵	۱۵/۶	۸/۰	۳/۸	۳۵/۵۸	۲/۰۱	۲/۷	۵/۳۸	۱۵/۶
SEM	۷/۲	۰/۴۷	۰/۱۸	۱/۳	۱/۱۹	۰/۳۴	۲/۲۵	۰/۵۲	۰/۶۵	۰/۷۸	۰/۶۹

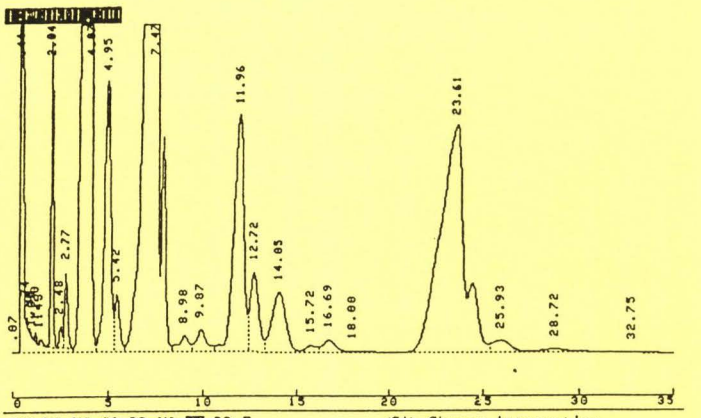
درصد لقاح و تعداد لارو به دست آمده از ماهیان خاویاری (بازدهی تکثیر مصنوعی) در بعضی موارد خیلی کمتر از آمار پیش‌بینی شده می‌باشد. با توجه به منابع موجود مبنی بر ارتباط بین نتایج انکوباسیون تخم‌ها و ترکیب لیپید تخمک (۴) جهت بالا بردن کارایی تکثیر مصنوعی ضرورت دارد کلیه عوامل موثر از جمله ترکیب بیوشیمیایی تخمک مورد توجه خاص قرار گیرند. در سالهای اخیر مطالعاتی بر روی ترکیب بیوشیمیایی ماهیان خاویاری انجام شده است.(۱، ۳، ۵، ۸، ۹، ۱۰) ولی هیچ یک در ارتباط با موضوع این تحقیق نبوده است. در مطالعه حاضر ابتدا ترکیب بیوشیمیایی تخمک تاسماهی ایرانی در مرحله اوولاسیون تعیین و پس از اندازه‌گیری درصد لقاح تخم، ارتباط آنها مورد بررسی قرار خواهد گرفت و در صورت موجود بودن ارتباط مشخص و قوی بین این دو، به عنوان معیاری جهت تشخیص و انتخاب مولدین مناسب مورد استفاده قرار گرفته و از اتلاف زمان و سرمایه جلوگیری شود.

مواد و روش کار

تخمک

در فروردین سال ۱۳۷۸ از ۲۴ عدد مولد تاسماهی ایرانی که به مرحله تکثیر مصنوعی رسیده بودند، حدود ۵۰ گرم تخمک نمونه‌برداری و در فریزر در ۲۰- درجه

کروماتوگرام شماره-۱- کروماتوگرام تعیین اسید های چرب ،تخمک اوواله شده تاسماهی ایرانی(ماهی اول)



PC MC MS SO PP MO PR E <CA> Change Attenuation

C-R4A CHROMATOPAC CH=1 REPORT No.=3 CHROMATOGRAM=1:@CHRM1.C00 00/00/00 00:30:09

** CALCULATION REPORT **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	0.075	676	35			0.0018	
	2	0.441	9646767	1266024	SVE		25.7129	
	3	0.745	4563	1308	T		0.0122	
	4	0.904	3899	1138	T		0.0104	
	5	1.05	964	200	T		0.0026	
	6	1.209	8506	1712	TV		0.0227	
	7	1.437	12472	992	T		0.0332	
	8	2.041	445279	59003	T		1.1869	
	9	2.489	47958	4013	T		0.1278	
	10	2.778	153578	14175	TV		0.4094	
	11	4.076	8383927	406033	V		22.3469	
	12	4.958	1185623	52818	V		3.1602	
	13	5.428	194025	10645	V		0.5172	
	14	7.48	10107371	256306	V		26.9406	
	15	8.985	113371	2933	V		0.3022	
	16	9.874	154023	4016	V		0.4105	
	17	11.968	1703176	45570	V		4.5397	
	18	12.727	459349	14417	V		1.2244	
	19	14.056	566963	10900	V		1.5112	
	20	15.728	46479	1088	V		0.1239	
	21	16.698	104250	2134	V		0.2779	
	22	18.008	11143	196	V		0.0297	
	23	23.617	3937973	43055			10.4964	
	24	25.931	147519	2173	V		0.3932	
	25	28.72	73009	638	V		0.1946	
	26	32.751	4382	55			0.0117	
		TOTAL	37517220	2201576			100	

سانتیگراد تا زمان آزمایش نگهداری گردید.

تعیین درصد لقاح

تخمکهای لقاح یافته، جهت انکوباسیون در داخل انکوباتور یوش‌چنکو قرار داده شدند و پس از حدود ۳ ساعت (در حرارت ۱۸ تا ۲۰ درجه سانتیگراد) زمانی که آثار دومین تقسیم میتوزی در سطح قطب حیوانی تخم ظاهر شد، بر اساس دستورالعمل Dettlaff و همکاران (۶) مقداری از تخم‌ها (حدود ۱۵۰ تا ۲۰۰ عدد) را به صورت تصادفی برداشته و به وسیله فرمالین ۱۰٪ تثبیت گردیده و درصد لقاح تعیین گردید. ماهیان بر اساس درصد لقاح تخم‌ها به دو دسته تقسیم شدند:

الف ـ درصد لقاح بالاتر از ۵۰ درصد ـ تخمهای با کیفیت مناسب

ب ـ درصد لقاح کمتر از ۵۰ درصد ـ تخمهای با کیفیت نامناسب

استخراج چربی

از هر نمونه تخمک ۲/۵ گرم توزین با استفاده از روش Folch و همکاران (۱۲) به شرح زیر، میزان درصد چربی آن استخراج و محاسبه گردید. نمونه دو بار، هر بار بار ۳۵ میلی‌لیتر مخلوط کلروفرم و متانول (۱:۱V/V) کاملاً مخلوط و سپس به مدت ۵ دقیقه در چهار هزار دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. صاف شده‌ها جمع‌آوری و به وسیله ۲۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۵۸ کلرور سدیم شستشو و لایه شفاف کلروفرمی حاوی چربی جداسازی و با استفاده از جریان ازت و دستگاه تبخیر در خلاء و حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد، حلال (کلروفرم) خارج و میزان چربی نمونه محاسبه گردید.

جداسازی فسفولیپیدها به روش HPLC

چربی به دست آمده در مقدار ۵ میلی‌لیتر محلول کلروفرم ـ متانول (۱:۲ V/V) حل و ۲۰ میکرولیتر از آن مستقیماً به دستگاه HPLC[1] (مدل CECIL) تزریق گردید. منحنی‌های به دست آمده با استفاده از منحنی استاندارد PLs شناسایی و محاسبه گردید، سیستم حلال انتخابی بر اساس pH gradient و Polarity gradient انتخاب گردید (۱۲).

ویژگی‌های ستون به کار رفته Lichtro cart # 55-12.5cm - Lichro sphere si-100 1.6mm

فشار از ۳/۴ تا ۷/۹ میلی پاسکال، مقدار تزریق ۲۰ میکرولیتر، زمان هر تزریق ۳۰ دقیقه و طول موج ۲۰۵ نانومتر. شرایط دستگاه مورد نظر عبارتست از:

آنالیز اسیدهای چرب تخمک (حاصل از فسفولیپیدها)

مابقی چربی تخمک بعد از HPLC با استفاده از دستگاه تبخیر در خلاء خشک و توزین گردید، برای جداسازی چربیهای قطبی و خنثی، نمونه در یک میلی‌لیتر مخلوط کلروفرم ـ متانول (۱:۱) حل و بر روی صفحه غشاء نازک سیلیکاژل ۶۰ لکه گزاری و به وسیله حلال هگزان ـ دی اتیل اتر ـ اسید استیک به نسبت (۱:۱۵:۸۵) جدا سازی و با استفاده از لامپ UV چربیهای قطبی با محلول کلروفرم ـ متانول (۲:۱) از صفحه جداسازی گردید (۱۲).

ش۵۵/ت۸۱

جدول شماره ۵- سطوح فسفولیپیدها و نسبت PL/L در تخمک اوله شدهٔ دو گروه از مولدین تاسماهی ایرانی (گروه اول : مولدینی که درصد لقاح تخم آنها بیش از ۵۰ ٪ بود، گروه دوم: مولدینی که درصد لقاح تخم آنها کمتر از ۵۰ ٪ بود).

ردیف	نسبت PL/L	مجموع L.Ph.E.و Ph.Ch.	Ph.E.	Ph.S.	Ph.I.	درصد لقاح
۱	-	۵۱/۵۲	۲۳/۲۹	۲۱/۷۹	۳/۳۸	۷۳/۷
۲	۵	۵۲/۸	۲۲/۸۹	۲۰/۵۴	۳/۷۶	۸۰
۳	۱۵/۶	۵۳/۵	۲۳/۸۳	۱۹/۳۹	۳/۲۶	۸۰/۹
۴	۵/۳۷	۵۳/۶۹	۲۳/۱۳	۱۹/۷۲	۳/۴۴	۸۰/۱
۵	۹/۴	۵۴/۵۹	۲۵/۱۴	۱۶/۸۶	۳/۴	۸۸/۵
۶	۸/۹	۵۵/۴	۲۵/۶۴	۱۶/۳۸	۲/۵۳	۶۴/۶
۷	-	۵۴/۰۱	۲۵/۸۴	۱۶/۴۵	۳/۶۸	۹۱/۱
۸	-	۵۰/۴۱	۲۶/۸۳	۱۸/۱۲	۴/۶۳	۸۲/۳
میانگین	۸/۸	۵۳/۲۴	۲۴/۵۷	۱۸/۶۵	۳/۵۱	۸۰/۱۵
SEM	۱/۹	۰/۵۷	۰/۵۲	۰/۷۱	۰/۲	۲/۹۲
۹	۱۴/۷	۵۵/۲۴	۲۲/۳۵	۱۹/۳۵	۳/۰۵	۴۶/۲
۱۰	۳۱/۱	۵۵/۸۵	۲۳/۸۵	۱۷/۳۵	۲/۹۳	۴۱/۴
۱۱	۱۰/۷	۵۵/۴۹	۲۲/۰۲	۱۹/۷۹	۲/۶۹	۰
۱۲	۲۲/۵	۵۵/۷	۲۴/۴	۱۷/۱۲	۲/۷۶	۴۲
۱۳	۱۳/۳	۵۵/۹۷	۲۴/۷۴	۱۶/۲۸	۲/۹۹	۵/۵
۱۴	۱۳/۳	۵۵/۰۵	۲۲/۲۷	۱۹/۰۲	۳/۶۴	۴۳/۹
میانگین	۱۷/۶	۵۵/۵	۲۳/۲	۱۸/۱۵	۳	۲۹/۸
SEM	۳/۱	۰/۱۴	۰/۴۸	۰/۵۷	۰/۱۳	۸/۶

تو ضیح: ردیف ۱-۸ گروه ماهیان با درصد لقاح بالاتر از ۵۰و ۹-۱۴ گروه ماهیان با در صد لقاح پائینتر از ۵۰.

- (L.Ph.E.) لیزو- فسفاتایدیل اتانولامین
- (Ph.E.) فسفاتایدیل اتانولامین
- (Ph.Ch.) فسفاتایدیل کولین
- (Ph. S.) فسفاتایدیل سرین
- (Ph.I.) فسفاتایدیل اینوسیتول

حاصل پس از خروج حلال توزین و از آن متیل استر تهیه گردید (با استفاده از متانول - بنزن و اسید سولفوریک) متیل استر به دست آمده با استفاده از دستگاه GC (گاز کروماتو گرافی) از نوع Vista 6000-varian با استفاده از ستون .DEGS ۱۵٪ و شناساگر FID تحت شرایط تحت جداسازی و نسبت درصد آنها در نمونه محاسبه گردید.

حرارت ستون: ۱۱۰ تا ۱۹۰ درجه سانتیگراد حرارت دتکتور: ۲۵۰ درجه سانتیگراد

حرارت تزریق: ۲۰۰ سانتیگراد حجم تزریق: ۱ میکرو لیتر

نسبت جریان: ۲۵ میلی لیتر در دقیقه گاز مورد استفاده: نیتروژن

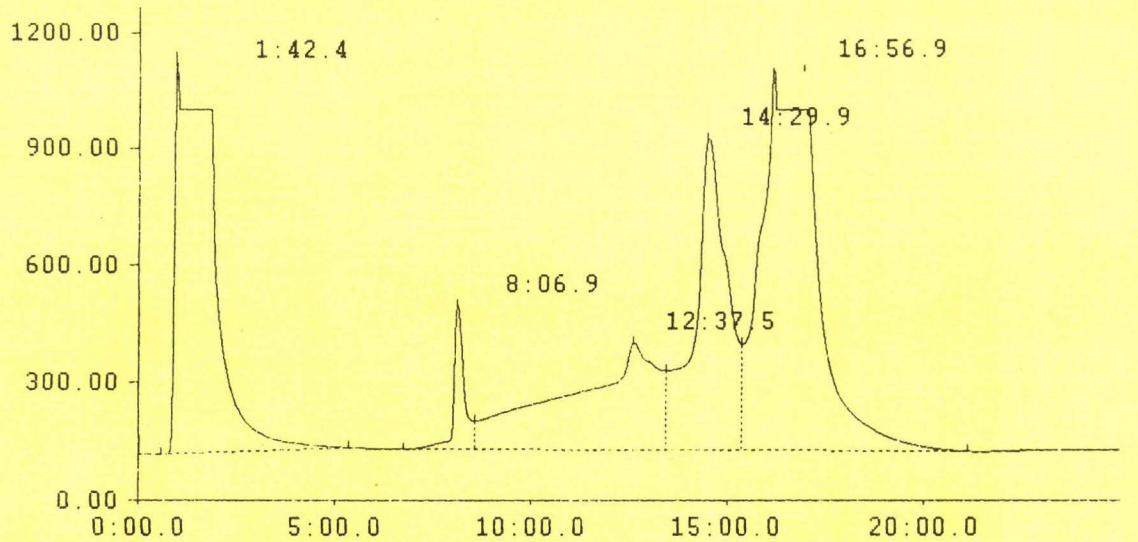
تعیین مقدار اسیدهای چرب (کل چربی تخمک)

حدود ۰/۵ گرم از چربی به دست امده از هر نمونه با محلولی از متانول - بنزن - اسید سولفوریک ۰/۵- ۱۵ - ۴۵ میلی‌لیتر) مخلوط و به مدت ۲ ساعت رفلکس نموده، با آب مقطر، مبرد را شستشو داده سپس به وسیله اتردوپترول، متیل استر، استخراج گردید. سپس با متیل رد تا تشکیل رنگ زرد شستشو را ادامه داده، بعد از آبگیری با سولفات سدیم انیدر (بدون آب)، بوسیله روتاری، حلال تبخیر شد. پس از آماده سازی دستگاه و دادن اطلاعات اولیه، استاندارد اسیدهای چرب حدود ۱ میکرولیتر تزریق و زمان بازداری اسیدهای چرب تعیین گردید، سپس نمونه‌ها تزریق، شناسایی و تعیین درصد شدند (Cronin همکاران ۱۹۹۱)

نوع دستگاه: G. C. -14A شیمادوز ژاپن دتکتور:FID

ستون: Packed Colm ov-1 حرارت ستون: ۱۹۰ درجه سانتیگراد.

کروماتو گرام شماره-۲-کرو ماتو گرام تعیین فسفو لیپید های تخمک اوله شده تا سماهی ایرانی (ماهی اول)



Peak	Ret Time	Peak Name	%Area	Ht	Amt	Area
1	1:42.4	* * *	27.020	977487	0.00	73044296.00
2	8:06.9	* * *	2.472	365156	0.00	6681360.00
3	12:37.5	* * *	15.907	271891	0.00	43001856.00
4	14:29.9	* * *	17.002	797846	0.00	45962756.00
5	16:56.9	* * *	37.600	975272	0.00	101645048.00

حرارت تزریق: ۲۰۰ درجه سانتیگراد حرارت دتکتور: ۲۱۰ درجه سانتیگراد.
میزان تزریق: ۱-۰/۵ میکرولیتر جریان: ۴۵ میلی‌لیتر در دقیقه

بررسی‌های آماری

جهت مقایسه و بررسی اختلاف میانگین اسیدهای چرب و فسفولیپیدها و میزان چربی با دو سطح درصد لقاح تخمک ماهی از آزمون T-Test و با استفاده از برنامه کامپیوتری Excel تحت Windows استفاده گردید.

نتایج

نتایج بررسی بیوشیمیایی تخمک اوله شده تاسماهی ایرانی نشان دادکه دو دسته از ماهیان (ماهیان با لقاح بالاتر از ۵۰ درصد و لقاح پایین‌تر از ۵۰ درصد)، از لحاظ بعضی از ترکیبات دارای اختلاف معنی‌داری هستند ولی از لحاظ اکثر فاکتورهای اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری ندارند.

الف ـ کل اسیدهای چرب تخمک

همانطور که جداول شماره ۱ و ۲، نتایج آزمایشات مربوط به تعیین میزان اسیدهای چرب، در تخمک اوله شده تاسماهی ایرانی را نشان می‌دهد، (ضمناً کروماتوگرام شماره ۱ زمان بازداری و... یکی از نمونه‌ها را نشان می‌دهد) اسید چرب اولئیک (C18:1) بیشترین مقدار را تشکیل می‌دهد و میانگین آن در ماهیان دسته اول ۴۱/۴۸ درصد (SEM=۱/۵۱) و در ماهیان دسته دوم ۴۴/۹ درصد (SEM=۰/۹۱) است که اختلاف دو دسته از ماهیان معنی‌دار است (p< ۰/۰۵).

ولی تخمک دو گروه از ماهیان از لحاظ اسیدهای چرب لوریک، مریستیک، پالمتیک (C:16)، پالمیتولئیک ((۱۹) C16:1)، پالمیتولئیک ((۱۷ C16:1)، لینولئیک، آلفالینولنیک، آراشیدونیک، آیکوساپنتانوئیک و دوکوساهگزانوئیک هیچ اختلاف معنی‌داری با هم نشان ندادند (p>۰/۰۵) (مقادیر SEM در ماهیان گروه اول به ترتیب ۰/۱۳، ۰/۰۳، ۰/۷۲، ۱/۸۲، ۰/۲۰، ۰/۱۱، ۰/۰۳، ۰/۱۴، ۰/۱۴ و ۰/۸۴ و در ماهیان گروه دوم به ترتیب ۰/۰۷، ۰/۰۳، ۱/۱۳، ۱/۱۴، ۰/۴۵، ۰/۱۶، ۰/۰۵، ۰/۱۲، ۰/۱۵، ۱/۲، بوده

است) زمان بازداری اسیدهای چرب در جدول شماره ۶ ارائه شده است.

ب- متوسط درصد چربی

اندازه‌گیری مقدار چربی تخمک نشان داد، متوسط چربی در ماهیان دسته اول ۱۵/۲ درصد (SEM= ۰/۸۵) و در ماهیان دسته دوم، ۱۵/۶ درصد (SEM=۰/۶۹) بوده است که اختلاف معنی‌دار نیست (p> ۰/۰۵).

اسیدهای چرب حاصل از لیپیدهای قطبی

نتایج حاصله از آزمایشات مربوط به میزان اسیدهای چرب حاصل از لیپیدهای قطبی جداسازی شده در تخمک ماهیان دو دسته از ماهیان (جدول شماره ۴ و ۳) نشان داد با وجود تفاوتهایی در میانگین مقادیر اسیدهای چرب، اختلاف آنها معنی‌دار نیست (p> ۰/۰۵) میانگین مقادیر اسیدهای چرب:

c:16(n-9), c:16, c:14, c:12 c:20-6(n-3), c:20-5, c:20, c:18, c:16(n-7),

در ماهیان دسته اول به ترتیب ۱/۱۸، ۰/۶۱، ۱۶/۴۲، ۸/۴۴، ۳/۴، ۳۵/۷۸، ۲/۳، ۴/۱۲، ۴/۳، (SEM آنها هم به ترتیب ۰/۱۴، ۰/۰۹، ۱/۳، ۰/۵۵، ۰/۳۶، ۱/۹، ۰/۶۲، ۰/۸۱ و ۰/۸۴ بود) و در ماهیان دسته دوم به ترتیب ۱/۸۸، ۰/۷۵، ۱۵/۶۵، ۸/۰۳، ۳/۸، ۳۵/۵۸، ۲/۰۱، ۲/۷۴ و ۵/۳۸ درصد بود (SEM آنها هم به ترتیب ۰/۴۷، ۰/۱۸، ۱/۳، ۱/۱۹، ۰/۳۴، ۲/۲۵، ۰/۵۲، ۰/۶۵ و ۰/۷۸ بود).

نسبت فسفولیپیدها به کل لیپیدها

نتایج بررسی نسبت فسفولیپیدها به کل لیپیدها در جدول شماره ۵ ارائه گردیده است که میانگین نتایج در دو گروه اول ماهیان ۸/۸ درصد (SEM = ۱/۹) و در گروه دوم ۱۷/۶ درصد (SEM = ۳/۱۵) بوده که اختلاف معنی‌داری را در این دو گروه از ماهیان نشان داده است (p< ۰/۰۵).

سطوح فسفولیپیدها:

بررسی‌ها از لحاظ سطوح فسفولیپیدها نشان داد، دو گروه از ماهیان در سطوح، فسفاتیدیل ـ اینوسیتول، فسفاتیدیل سرین و فسفاتیدیل اتانولامین، اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (p> ۰/۰۵) ولی از لحاظ مجموع سطوح لیزو ـ فسفاتایدیل اتانولامین و فسفاتیدیل کولین اختلاف آنها معنی‌دار است (p< ۰/۰۵) و میانگین آن در ماهیان گروه اول ۵۳/۲ (SEM = ۰/۵۷) و در ماهیان گروه دوم ۵۵/۵ درصد (SEM = ۰/۱۴) است.

(ضمناً کروماتوگرام شماره ۲ بازداری و... یکی از نمونه‌ها را نشان می‌دهد).

بحث و نتیجه‌گیری

تخمک ماهیان خاویاری حاوی مقادیر زیاد انواع

جدول شماره ۶- زمان بازداری اسیدهای چرب

فاز متحرک شامل شدت جریان برحسب ml/min	حلال زمان بر حسب شدت متال H_3PO_4	حلال الف استونیتریل ۰/۲ درصد H_3PO_4	زمان برحسب دقیقه
۱	۰	۱۰۰	۰
۱	۰	۱۰۰	۵
۱	۱۰۰	۰	۱۵
۱	۰	۱۰۰	۱۶
۱	۰	۱۰۰	۳۰

لیپیدهاست که در طی تکامل جنینی و دوره لاروی (قبل از شروع تغذیه خارجی) اکثر آنها به عنوان منبع انرژی و ساختمانی مورد استفاده قرار می‌گیرند و در تاسماهی ایرانی (قره برون) مقدار کل لیپیدها (به طور متوسط ۱۵/۴ درصد) برآورد شده است. مقدار لیپید تخمک اوولد شده ماهی ازون برون ۱۲/۸ درصد (۷)، ماهی استرلیاد ۱۰/۷ درصد (۷)، ماهی کفشک اقیانوس اطلس ۱۲ درصد (۱۳) به دست آمده است که در تمام این موارد از مقدار لیپید تخمک اوولد شده قره برون کمتر بوده است.

مقدار لیپیدها در طی تکامل جنینی کاهش می‌یابند به عنوان مثال در ماهی ازون برون از ۱۲/۸ درصد وزن‌تر در هنگام اوولد شدن به ۰/۷ درصد در هنگام هچ کاهش می‌یابد و در ماهی استرلیاد از ۱۰/۷ درصد به ۰/۵ درصد می‌رسد (۷).

فسفولیپیدها معمولاً به عنوان ترکیبات ساختمانی برای شکل‌گیری بیو غشاء[2] مورد توجه هستند اهمیت آنها به عنوان پیش سازهای بیوغشاء در طی دوره جنینی، احتمالاً عامل اصلی غلظت بسیار بالای اولیه این لیپیدها در زرده تخم هستند (۲، ۱۳، ۱۴).

بررسی‌های نتایج این تحقیق نشان داد که دو گروه از ماهیان از لحاظ نسبت فسفولیپیدها به کل لیپیدها اختلاف معنی‌داری با هم دارند (p< ۰/۰۵) که این نتایج با مشاهدات Abrosimova و همکاران (۴) که در ماهی ازون برون انجام داده‌اند مطابقت دارد. از لحاظ مقدار فسفولیپیدها که در ماهیان گروه اول ۸/۸ درصد و در ماهیان گروه دوم ۱۷/۶ درصد بوده است ضمن وجود اختلاف معنی‌دار بین دو گروه تفاوت اساسی با مقادیر لیپیدهای قطبی کفشک ماهی اقیانوس اطلس دارد مقدار فسفولیپیدها در ماهی کفشک ۷۰/۸ درصد کل لیپیدها گزارش شده است (۱۱). مقادیر به دست آمده در این بررسی از مقدار فسفولیپید شگ ماهی اقیانوس اطلس که ۱/۴ + ۶۸/۹ درصد گزارش شده هم کمتر است (۱۳).

مقدار فسفولیپیدهای ماهیان گروه اول قره برون (۸/۸ درصد) از مقادیر ذکر شده ماهیان ازون برون (۱۱/۵ درصد) استرلیاد (۱۷/۳ درصد) و تاسماهی سیبری (۱۹ درصد) کمتر است ولی مقدار فسفولیپیدهای ماهیان گروه دوم (۱۷/۶ درصد) از مقادیر ذکر شده ماهیان ازون برون (۱۱/۵ درصد) کمتر است (۷) از لحاظ سطح هر یک از فسفولیپیدها، مجموع سطوح لیزوفسفاتیدیل کولین و فسفاتیدیل کولین که در ماهیان گروه اول ۵۵/۵ درصد و در گروه دوم ۵۳/۲ درصد بود از آمار ذکر شده در مورد شگ ماهی اقیانوس اطلس یعنی ۶۳/۳ درصد (۱۳) و کفشک ماهی اقیانوس اطلس یعنی ۶۲/۳ درصد (۱۱) و ماهی ازون برون یعنی ۷۲/۱ درصد و ماهی استرلیاد یعنی ۶۸/۲ درصد (۷) کمتر است.

اسیدهای چرب ۳ = n (P.U.F.A) که به مقدار زیاد مورد نیاز جنین در حال تکامل می‌باشد به مقدار فراوانی وجود دارد و نسبت n3/n6 در ماهیان گروه اول ۴۴/۸۶ و در ماهیان گروه دوم ۴/۲۹ می‌باشد که از آمار گزارش شده در مورد ماهی ازون برون ۱/۸ و استرلیاد ۲/۸ (۷) بیشتر است.

تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده از این تحقیق بیانگر آن است که با وجود اختلاف معنی‌دار دو دسته از ماهیان در ۳ فاکتور، در بقیه فاکتورهای اندازه‌گیری و بررسی شده (۲۶ مورد) اختلاف معنی‌داری نداشته‌اند، لذا برای استفاده از ترکیب بیوشیمیایی تخمک به عنوان معیاری جهت تشخیص و انتخاب مولدین مناسب (قبل از عملیات تزریق)، ضرورت دارد تحقیقات بیشتری بر روی دیگر ترکیبات تخمک انجام گردد.

سپاسگزاری

مولفین لازم می‌دانند از همه افرادی که در انجام این مطالعه همکاری داشته‌اند به ویژه مهندس نوری، مهندس لشتو آقایی، خانم بانکه ساز و پرسنل بخش تکثیر ماهیان خاویاری شهید رجایی ساری تشکر و قدردانی نمایند و همچنین از خانم سیده زهرا نبوی جهت تایپ و ویرایش مقاله تشکر می‌شود.

پاورقی‌ها

1- High performance liquid chromatography.

2- Biomembrane.

منابع مورد استفاده

۱ـ حقیقی، محمود، پیری، سیروس و رضائیان، محمود، ۱۳۷۵. بررسی میزان چربی، اسیدهای چرب مخصوصاً اسید چرب امگا ـ ۳ در تاسماهیان خاویاری دریای خزر و ماهی کیلکا ـ نهمین کنگره ملی صنایع غذایی ایران (غذاو استاندارد). ص ۸۹ ـ ۱۰۲.

۲ـ شهباری، پرویز و ملک‌نیا ناصر، ۱۳۶۳. بیوشیمی عمومی، مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ص ۱۱۳ ـ ۱۳۳.

۳ـ گل آقایی، م. کلباسی، م.، نظری، ر. اسدالهی، م. و لطفی‌نژاد ـ ح.، ۱۳۷۷. بررسی و مقایسه برخی خصوصیات بیوشیمیایی مولدین قره برون و. چالباش در تکثیر مصنوعی، اولین سمپوزیوم ملی ماهیان خاویاری، ص ۵.

4- Abrosimova N.A. Abrosimov S.S and Birykova A.A. 1997; Effects of the lipid composition of stellate sturgeon eggs on commerical qualities of this species. 3th

جدول شماره ۷- جدول زمان بازداری و موقعیت پیک اسیدهای چرب در هر یک از کروماتوگرام‌های تعیین اسیدهای چرب تخمک اوواله شده تاسماهی ایرانی به تفکیک شماره نمونه

شرح	شماره کروماتو گرام											
	۱	۲	۳	٤	٥	٦	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
اسید لوریک	۲/۰٤	۲/۲۷	۲/۱۲	۲/۱۱	۲/۰۹	۲/۱٦	۲/۲	۲/۰۳	۲/۰۱	۲/۲٦	۱/۷٦	۲/۲
اسید میریستیک	۲/۷۷	۳/۱۲	۲/۹۰	۲/۸۷	۲/۸٤	۲/۹٦	۳/۰۱	۲/۸۰	۲/۷۱	۳/۰۹	۲/۳۲	۲/۹۸
اسید پالمیتیک	–	٤/۰٦	۳/۷٥	۳/۷۲	۳/٦۸	۳/۸٥	۳/۹۱	۳/٦۸	۳/٤۷	٤/۰۱	–	۳/۸٥
اسید پالمیتولئیک(۹)۱	٤/۰۷	٤/٤۳	٤/۰۹	٤/۰۷	٤/۰۲	٤/۲٤	٤/۲۹	٤/۰۸	۳/۷۷	٤/۳۸	۳/۲۲	٤/۲۱
اسید پالمیتولئیک (۷) ۱	٤/۹٥	٥/٥۲	٥/۰۷	٥	٤/۹۳	٥/۲۱	٥/۳۰	٤/۹٦	٤/۷۳	٥/٤٦	۳/۸۹	٥/۲٥
اسید اولئیک	۷/٤۸	۸/۰٥	۷/٥۱	۷/٥۱	۷/۳۲	۷/۸۷	۷/۹۲	۷/٥٥	٦/۹۷	۸/۰٦	٥/۸٤	۷/۷٤
اسید لینولئیک	۸/۹۸	۸/٦٤	۸/۰۸	۸/۰۸	۷/۸۱	۸/۳٤	۸/٤۷	۸/۸۲	۷/٥۲	۸/٦۷	٦/۱۱	۸/۲۷
اسید آلفا –لینولنیک	۹/۸۷	۱۰/۹۰	۱۰/۲۷	۱۰/۳٥	۹/۸۷	۱۰/٥۰	۱۰/۷٦	۹/٤٥	۹/٦٥	۱۱/۰٦	۷/٦۸	۱۰/٥۲
اسید آراشیدونیک	۱۲/۷۲	۱۳/٦۹	۱۳/۱۱	۱۳/۰٥	۱۲/٦۲	۱۳/٤۲	۱۳/۷٦	۱۱/۹۲	–	۱٤/۱٦	۹/۹۷	–
اکوزپنتانوئیک اسید	۱٤/۰٥	۱٤/۹۸	۱٤/٤۳	۱٤/۲۹	۱۳/۸۷	۱٤/۸۰	۱٥/۱٥	۱۲/۸٥	۱۳/٦۱	۱٥/٦٤	۱۱	۱٤/۷۸
دکوزهگزانوئیک اسید	۲۳/٦۱	۲۳/۳۹	۲۲/۸٦	۲۲/٤۲	۲۲/۱۸	۲۳/۸۹	۲٤/٤۲	۲۰/۲٦	۲۲/۰۹	۲٥/۲٥	۱۸/٤۱	۲۳/٤٥

13- Trocher D.R., Fraser A.J., Sargent J.R. Gamble J.C. 1985a- Lipid class compositon during embryonic and early larval development in Alantic Herring (*Clupea harengus* 1.). Lipids-Vol 20(2): 84-89.

14- Trocher D.R., Fraser A.J., Sargent J.R. and Gamble J.C. 1985b. Fatty acid composition of phospholipids and neutral lipids during embryonic and early larval development in Atlantic Herring (*Clupea harengus* L.). Lipids. vol 20 (2): 69-74.

characterization of lipid composition of the lipoproteins of the blood serum of sturgeons Jour. Ichthyology 35 (8): 263-270.

10- Paleari M.A. Beretta G. Grimaldip. and Vaini F. 1997. Farmed white sturgeon: Muscle tissue and total fatty acids composition in two different sizes. 3th ISS 97 Italy.

11- Petersen S.F. ,Petersen I.F. , Sargent J.R. and Haug T. 1986. Lipid class and fatty acid compostion of eggs from the Atlantic Halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Aquaculture. 52:207-211.

12- Seewald M. and Eichinger H.M. 1989. Seperation of major phospholipid classes by High-Performance Liquid Chromatography and subsequent analysis of phospholipid-bound fatty acid using Gas Chromatography -Journal of chromatography, 469: 271-180.

ISS 97 Italy.

5- Dabrawaki K., Czesny S., Christensen J.E. Van eenennaam J.P. Doroshov S.I. 1997. Fatty acid composition of sturgeon eggs discrimination of domestic and wild origin -3 th ISS97. Italy.

6- Dettlaff T.A., Ginsburg A.S. and Schmalhousen O.I. .1993. Sturgeon fishes. development biology and aquaculture, Springler - verlag, Berlin Heidelberg printed in Germany - 49-151.

7- Gershanovich A.D. 1991. Lipid mobilization during early development of sturgeons - acipenser - cemagref Publ. 41-51.

8- Hiraoka K. and Naruse U. 1997. Fatty acid composition of cultured sturgeon by stopping from Feeding -3th ISS 97. Italy.

9- Lizenko Y.I. Sidorov V.S. Lukyanenko V.I. regetand T.I. Gurganova S.D., Vasilyeva T.S. and Takshyev S.A. 1995. General